



TITLE:

資料9 霊長類のリンパ球発現遺伝子の解析(VI 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

酒井, 健夫; 伊藤, 琢也

CITATION:

酒井, 健夫 ...[et al]. 資料9 霊長類のリンパ球発現遺伝子の解析(VI 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 2001, 31: 161-162

ISSUE DATE:

2001-10-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/165593>

RIGHT:

PS-2 の N 末端および C 末端に対する特異抗体による免疫組織化学的検索を行った。両抗体ともに神経細胞の細胞質を顆粒状に染色し、神経網も染色された。いずれの染色性も加齢とともに増強されていった。しかし両抗体ともに老人斑は染色しなかった。カニクイザル PS1 の脳内局在と比較してみると、神経細胞や神経網での局在と加齢との関係はほぼ一致したが、PS1 の C 末端が老人斑の腫大神経突起に確認された点が PS-2 と異なっていた。

PS はともに、老人斑の主成分である $A\beta$ 分泌を増強すると考えられているが、PS1 ノックアウト動物は APP 代謝に影響があったのに対し、PS2 ノックアウト動物は APP 代謝に影響がなかったとの報告がある。1) カニクイザルで、PS2 は老人斑に見られないという結果、2) ノックアウト動物での PS2 の APP 代謝への影響がないとの結果から、PS2 の存在が老人斑形成に与える影響は小さいと考えられた。これは、それぞれの PS の発現量の違いによるものではないかと考え、今後の検索を進めているところである。

資料 8

霊長類の精巣および下垂体におけるインヒビン分泌について

伊藤麻里子・清水慶子・林 基治（京都大・霊長研・分子生理）

インヒビンは主に性腺（精巣および卵巣）、一部は下垂体から分泌されるホルモンで、下垂体から分泌される卵巣刺激ホルモン（FSH）の分泌調節に重要な役割を演じている。また、雄では、インヒビンが精子形成と深く関係していることが、最近注目されている。インヒビンは、 α 鎖と β 鎖のダイマーから構成されており、インヒビン A（ α 鎖と BA 鎖）、インヒビン B（ α 鎖と BB 鎖）の 2 種類が存在している。

今年度は、繁殖期のニホンザルのアダルトの精巣を採取し、ブアン昇汞液で固定を行い、パラフィン切片を作製した。作製した切片に対して、インヒビン α 鎖、BA 鎖、BB 鎖の抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った。その結果、インヒビン α 鎖はセルトリ細胞に、インヒビン BA 鎖はライディッヒ細胞に、インヒビン BB 鎖はセルトリ細胞に陽性反応が認められた。

以上の結果から、アダルト雄ニホンザルでは、ダイマーを構成しているインヒビンはインヒビン B であり、このインヒビン B はセルトリ細胞から分泌されていることが推察された。なお、下垂体におけるインヒビンについては現在検討中である。

資料 9

霊長類のリンパ球発現遺伝子の解析

酒井健夫・伊藤琢也（日本大・生物資源・獣医衛生）

霊長類の免疫機構解明の一環としてのリンパ球発現遺伝子の解析計画に基づき、その解析技術と基礎資料を得るため、ヒト、ウシ、ブタ、マウスおよびハンドウイルカのリンパ球における各種サイトカイン遺伝子（IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1ra、IL-4、IFN γ および TNF α ）の発現を RT-PCR 法にて確認した。それぞれの動物から採取した末梢血液から密度勾配遠心法を用いて白血球を分離し、その後コンカナバリン A を添加した 10% ウシ胎仔血清加 RPMI 培養液で 37℃ 数時間刺激培養を行った。培養後、市販の RNA 抽出キットを用いてそれぞれの白血球から mRNA を含む全 RNA を抽出した。続いてヒトおよびマウスの cDNA 配列をもとに作製した各種サイトカイン遺伝子検出プライマーを用いて各種動物の抽出 RNA から RT-PCR を試みた。その結果、すべての動物種においてそれぞれのサイトカイン遺伝子発現が確認された。新たに得ら

れたハンドウイルカのサイトカイン遺伝子をクローニングし、遺伝子配列を決定したところ、上記のサイトカイン遺伝子は哺乳動物で比較的保存されており、推定されるアミノ酸配列相同性は、41～85%であった。

以上より、霊長類のリンパ球発現遺伝子の解析に必要な技術は確立し、また基礎資料も入手できた。

資料 10

新世界ザル排泄物からの視物質遺伝子の増幅

河村正二（東京大・新領域・先端生命）

新世界ザルはホエザルとヨザルを例外として、色覚に大きな種内変異を有する特異な動物群である。したがって色覚進化と行動進化の関連性を検討する格好の対象である。しかしそのためには野生動物にも応用できる色覚型判定法の確立が必要である。色覚型は赤・緑視物質遺伝子の塩基配列を決定することにより判定できる。そこで野生動物から最も入手可能性の高い生体試料である糞や尿から DNA を抽出し、PCR 法で目的の視物質遺伝子を単離し配列決定する方法を確立することを本研究の目的とした。赤・緑視物質の遺伝子型は第 3、4、5 エクソンに含まれる合計 5 個のアミノ酸座位によって決定されるため、これら 3 エクソンを含む DNA 断片約 3.7kb の増幅を試みた。リスザルとオマキザルの血液と糞を試料として用いた。血液試料については、アニーリング時間を 5～10 秒と短くすることにより非特異性増幅が抑えられることがわかり、PCR 産物を除タンパク質処理しただけの精製物を用い PCR プライマーより内側領域をプライマーとしたダイレクトシーケンスにより目的とする塩基配列を読むことができた。糞試料についてはまだ調査が不十分であり、血液での実験条件を基本に今後さらに検討していく必要がある。

資料 12

東北・関東のニホンザル分布の歴史的変遷

和田一雄（野生生物保護学会）

竹下完は 1970 年に全国の地方自治体にニホンザルの分布情報のアンケート調査を行ったが、現在まで未公開だった。これを公開準備中（京大霊長研）なので、白神山地関係のみを取り出し、現在と対比させ、問題の指摘を行った。

和田らの 1999 年からの調査によると岩木川沿いの美山湖から下流の西目屋村には確認した群れ数は 2 群だが、これまでの発見場所などから見て 3・4 群はいると推定している。そして、和田らの聞き込みでは猿害は美山湖から上田代の比較的上流部では 10 年以上前から、そこからさらに下流部では最近数年前から起こったという。

竹下（1970）によると西目屋村サルは生息していない。竹下のアンケートは地方自治体宛なので、村役場とそれに関係する機関が答えているであろう。それ故、アンケートが集めた地域は和田らの調査地域を大部分含んでいると見ていいだろう。1971 年 4 月に和田ら（1998）は岩木川の、美山湖から上流部を調査しており、そこでは多数の食痕を観察した。そして村内のリンゴ園などでは猿害のことは聞かなかった。おそらく 1970 年前後には群れはまだ分布域を農地近くまで広げていなかったと見る事が出来るだろう。猿害発生は比較的最近になって起こっていることからみて、1970 年以前に美山湖下流の西目屋村にニホンザルは居なかったと見ていいのではないかと思われる。